

БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по учебной работе

_____ А.Л. Толстик

(подпись)

(дата утверждения)

Регистрационный № УД-_____/баз.

БИОАНАЛИТИКА

Учебная программа для специальности

1-31 05 01 Химия (по направлениям)

Направления специальности:

1-31 05 01-01 научно-производственная деятельность

1-31 05 01-03 химия лекарственных препаратов

Факультет химический

Кафедра аналитической химии

Курс (курсы) четвертый, пятый

Семестр (семестры) 8, 9

Лекций 36 (часов)

Зачет 8, 9 семестр

Практические (семинарские) занятия 14 (часов)

КСР 6 (часов)

Всего аудиторных часов по дисциплине 56

Всего часов по дисциплине 56

Форма получения высшего
образования очная

Минск, 2014

СОСТАВИТЕЛИ:

Юркова И.Л., профессор кафедры аналитической химии Белорусского государственного университета, доктор химических наук

РЕЦЕНЗЕНТЫ:

Квасюк Е.И., профессор кафедры биохимии и биофизики факультета экологической медицины Международного государственного экологического университета им. А.Д.Сахарова, доктор химических наук, профессор

Полозов Г.И., доцент кафедра радиационной химии и химико-фармацевтических технологий химического факультета БГУ, кандидат химических наук, доцент

РЕКОМЕНДОВАНА К УТВЕРЖДЕНИЮ:

Кафедрой аналитической химии Белорусского государственного университета (протокол № ____ от _____);

Учебно-методической комиссией химического факультета Белорусского государственного университета (протокол № ____ от _____)

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Рубеж XX-XXI веков отмечен мощным развитием биохимии, фармацевтики, молекулярной медицины, иммунологии, генетики, биотехнологии. Достижения в данных областях науки и дальнейший прогресс связаны с развитием и совершенствованием биоаналитических методов анализа. Биоаналитика является междисциплинарной областью знаний на стыке аналитической химии, биохимии, молекулярной биологии, микробиологии и материаловедения, по сути это новая инновационная отрасль науки, которая стремительно развивается. Биоанализ составляет огромную часть в различных разделах биотехнологии, постоянно возрастает ее значение в развитии инновационной диагностики, системе мониторинга окружающей среды. Потребности практики определяют необходимость в подготовке высококвалифицированных специалистов в области биоаналитической химии.

Цель данного курса - дать знания о современных методах анализа биологических молекул и с использованием биологических объектов, обеспечить формирование у студентов представлений о перспективных направлениях в области биоаналитической химии с учетом новейших достижений и актуальных задач биотехнологии, а также достижений в области аналитической инструментальной техники. Важным аспектом курса является углубление аналитического понимания использования комбинации различных методов, а также принципы, применимость и продуктивность отдельных биоаналитических методов.

В *задачи курса* входит формирование у студентов знаний и умений о:

- преаналитических этапах в биоанализе;
- основных биоаналитических методах, базирующихся на использовании ферментов, ДНК, антиген-антител;
- современных технологических платформах для исследования в области генома, протеома и липидома;
- биосенсорах;
- гибридных методах анализа и мульти-дименсиональной технике.

Адресат курса: студенты старших курсов, обучающиеся по специальности «Химия», специализирующиеся в области аналитической химии. *Требования к начальной подготовке,* необходимые для успешного усвоения курса: базовые знания по аналитической химии, биохимии, физической и коллоидной химии, химии полимеров, молекулярной биологии.

В результате спецкурса специалист-химик должен: знать и использовать основные теории, концепции и принципы в области современной биоаналитической химии и быть способным выбрать и обосновать оптимальный способ решения конкретной биоаналитической задачи; *уметь ориентироваться* в современных направлениях и новейших методах в биоаналитике; *быть способным* в условиях развития науки и изменяющейся социальной практики к переоценке накопленного опыта и *уметь* приобретать новые знания, необходимые для решения конкретных практических задач в биоанализе.

ПРИМЕРНЫЙ ТЕМАТИЧЕСКИЙ ПЛАН

№ п/ п	Название разделов, тем	Количество часов				
		аудиторные				Самост. работа
		лекции	Практич., семинар.	Лаб. занят.	КСР	
1	Преаналитика	8	2		2	14
2	Секвенирование белков, нуклеиновых кислот и углеводов	2				8
3	Гель-электрофорез, капиллярный электрофорез. Капиллярная электрохроматография.	10	4		2	14
4	Ферментативный анализ	8	4		2	14
5	Иммунный анализ	8	4			14
	Итого	36	14		6	64

СОДЕРЖАНИЕ УЧЕБНОГО МАТЕРИАЛА

Тема 1. Преаналитика

Введение. Предмет, объект и методы биоаналитической химии. Современные тенденции в развитии биоанализа. Краткая информация о свойствах биомолекул (ДНК, белков, углеводов, липидов) и их влияния на выбор метода анализа.

Преаналитика, цель и значение в биоанализе, преаналитические этапы. Предобработка биоматериала. Методы разрушения биологического материала. Гомогенизация. Выбор среды и условий гомогенизации. Методы гомогенизации: механические и немеханические. Методы обезвоживания и сушки биоматериала. Методы фракционирования, разделения, очистки и концентрирования компонентов из многокомпонентных систем (методы обработки гомогената). Центрифугирование, препаративные техники в биоанализе. Способы разделения и концентрирования компонентов пробы с использованием мембран (диализ, ультрафильтрация, диафильтрация, электродиализ). Методы осадительного разделения компонентов.

Способы разделения и концентрирования компонентов пробы в биоанализе с использованием препаративной хроматографии. Эксклюзионная хроматография. Гидрофобная хроматография и ее разновидности с индуцированием заряда.

Методы экстракции. Ускоренная экстракция растворителями, экстракция ультразвуком и микроволнами, сверхкритическая жидкостная экстракция, экстракция в системе жидкость-жидкость, экстракция твердой фазой.

Тема 2. Секвенирование белков, нуклеиновых кислот и углеводов

Методы секвенирования белков. Основные методы в анализе нуклеиновых кислот. Полимеразная цепная реакция (ПЦР). Секвенирование ДНК. Методы анализа полисахаридов.

Тема 3. Гель-электрофорез, капиллярный электрофорез. Капиллярная электрохроматография.

Электрофорез (ЭФ), понятие, движущие силы. Электрофоретическая подвижность частиц. Классификация электрофоретических методов. Аппаратура для гель-ЭФ, пробоподготовка. Характеристика основных гелей, используемых в ЭФ. Условия эксперимента, влияющие на электрофоретическое разделение. Визуализация разделенных зон и количественное определение веществ. Блоттинг. Техники ЭФ. Зонный электрофорез (ЗЭФ). Графики Фергюсона. Электрофорез белков и нуклеиновых кислот в денатурирующих условиях. Изотахорофорез. Дискретный ЭФ (диск-электрофорез). Изоэлектрическое фокусирование (ИЭФ). Двумерный электрофорез белков и нуклеиновых кислот. Принцип дифференциального двумерного ЭФ. Принцип импульсного гель-ЭФ.

Капиллярный электрофорез (КЭФ). Устройство системы КЭФ. Преимущества КЭФ. Электроосмотический поток (ЭОП). Способы управления ЭОП. Аналитическая характеристика метода. Основные варианты КЭФ. Капиллярный зонный электрофорез. Капиллярный гель-электрофорез. Капиллярный изотакхофорез. Изоэлектрическое фокусирование в капилляре, методы мобилизации зон. Капиллярный аффинный электрофорез.

Мицеллярная электрокинетическая капиллярная хроматография (МЭКХ). Принцип разделения в МЭКХ.

Капиллярная электрохроматография (КЭХ). Принцип разделения компонентов в КЭХ. Факторы, определяющие ЭОП в КЭХ. Типы колонок в КЭХ: полые, насадочные, монолитные.

Тема 4. Ферментативные методы анализа

Ферментативный анализ (ФА). Использование ферментов в качестве аналитических реагентов. Преимущества ферментов как аналитических реагентов. Специфичность ферментов. Элементы механизма действия ферментов и кинетики ферментативных реакций, необходимые для конструирования энзимологических аналитических систем. Фермент-субстратные комплексы. Уравнение Михаэлиса-Ментен. Методы определения

его кинетических параметров (константы Михаэлиса, максимальной скорости ферментативной реакции). Константа Михаэлиса.

Факторы, влияющие на скорость ферментативных реакций. Влияние значения pH, ионной силы, концентрации буферных растворов, температуры, концентрации субстратов и ферментов. Ферментативные эффекторы: активаторы и ингибиторы. Ингибирование ферментативных реакций. Типы обратимого ингибирования: конкурентное, неконкурентное, бесконкурентное. Каталитическая активность фермента. Единицы ферментативной активности. Расчет ферментативной активности. Каталитическая константа. Каталитическая эффективность.

Методы определения субстратов и ферментов. Метод начальных скоростей. Метод конечной точки. Сопряженные полиферментные системы в анализе. Циклические ферментативные процессы. Способы измерения аналитического сигнала в ферментативных методах (инструментальные методы). Оптические (спектрофотометрия, флуориметрия, люминометрия, нефелометрия, турбидиметрия), электрохимические (амперометрия, потенциометрия, кондуктометрия), радиохимические, калориметрические.

Иммобилизованные ферменты. Методы иммобилизации. Влияние иммобилизации на свойства ферментов.

Тема 5. Иммуный анализ

Иммунохимические методы анализа. Понятия об антигене и антителе. Аффинность и авидность антител. Моно- и поликлональные антисыворотки. Виды антигенов. Специфичность взаимодействия антител с антигенами. Иммунопреципитация.

Реакция агглютинации. Иммунодиффузия, ее варианты. Иммуноэлектрофорез, его варианты. Иммунотурбидиметрия и иммунонефелометрия.

Иммунохимические методы с использованием меченных антител или антигенов, этапы иммунохимической реакции. Преимущества гомогенного иммунологического анализа (ИА). Гетерогенный иммуноанализ, способы отделения иммунного комплекса. Твердофазный гетерогенный ИА. Пути иммобилизации антитела или антигена на твердую поверхность, этапы твердофазного ИА.

Оценка метода иммунологического анализа. Контроль неспецифического связывания в ИА. Перекрестные реакции, способы их минимизации. Повышение чувствительности иммунологического метода.

Методы по принципу деления антигена, антитела с помощью меченных реагентов: неконкурентные, двусторонний (сэндвич-метод), конкурентные.

Флуоресцентный иммуноанализ (ФИА). ФИА с переносом энергии. ФИА с временным разрешением. Поляризационный ФИА.

Иммуноферментный анализ (ИФА). Способы повышения чувствительности ИФА. Гомогенный мультиканальный вариант ИФА (ЕМIT). Метод иммуноферментных пятен (ELISPOT).

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

Основная

1. Основы аналитической химии (под ред. Ю.А. Золотова). В 2-х кн. - М.: Академия, 2010. - 384, 403 с.
2. Отто М. Современные методы аналитической химии : в 2 т. – М. : Техносфера, 2003. – Т. 1. – 412 с., Т. 2. – 281 с.
3. Проблемы аналитической химии. Т.12. Биохимические методы анализа. М.: Наука, 2010. - 319 с.
4. Аналитическая химия (в 3-х томах) / Под ред. Л.Н.Москвина. – М.: Издательский центр «Академия», 2008.- 308, 304 с.
5. Аналитическая химия и физико-химические методы анализа (в 2-х томах) / Под ред. А.А. Ищенко. – М.: Издательский центр «Академия», 2010.
6. Беккер Ю. Хроматография. Инструментальная аналитика: методы хроматографии и капиллярного электрофореза. М.: Техносфера, 2009. - 472с.
7. Остерман Л. А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот. М.: МЦНМО, 2002.- 248с.
8. Остерман Л. А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот: Электрофорез и ультрацентрифугирование М.: Наука, 1981. - 288 с.
9. Остерман Л.А. Исследование биологических макромолекул электрофокусированием, иммуноэлектрофорезом и радиоизотопными методами. М.: Наука, 1983.
- 10.Эггинс Б. Химические и биологические сенсоры. М.: Техносфера, 2005. 335 с.
- 11.Нолтинг Б. Новейшие методы исследования биосистем. М.: Техносфера, 2005. - 256 с.
- 12.Теория и практика иммуноферментного анализа /[Егоров А.М. и др.]/ М.: Высшая школа, 1991. – 228 с.
- 13.Иммобилизованные ферменты. Березин И. В. и др. М.: Высшая школа. 1987. - 167 с.
- 14.Биосенсоры: основы и приложения / Под ред. Э.Тернер, И.Карубе, Дж.Уилсон. М.: Мир, 1992 – 614 с.
- 15.Варфоломеев С. Д., Гуревич К. Г. Биокинетика. М.: ФАИР-ПРЕСС, 1999. – 720 с.
- 16.Кулис Ю.Ю. Аналитические системы на основе иммобилизованных ферментов.- Вильнюс: Мокслас, 1981. - 200 с.
- 17.Варфоломеев С.Д. Химическая энзимология.- М.: Академия, 2005.- 472 с.
- 18.Тривен М. Иммобилизованные ферменты.- М.: Мир, 1983.- 218 с.
- 19.Новые методы иммуноанализа / [М.Тертон,Д.Р.Бангхем,К.А.Колкотт и др.]/ Под ред. А.М. Егорова. - М.: Мир, 1991. - 279 с.
- 20.Новые направления в развитии иммунологических методов анализа : сб. обзоров / Гос. ком. СССР по науке и технике, АН СССР, ВИНТИ ; под ред. А. М. Егорова. - М. : [б. и.], 1990. - 196 с.
- 21.Микрофлюидные системы для химического анализа. ред.: Ю. А. Золотов, В. Е. Курочкин. Москва : Физматлит, 2011. - 528 с.

Дополнительная

- 22.Туманов А.А. Биологические методы анализа. *Журнал аналитической химии*. 1988. Т. 43, № 1. С. 20 – 35.
- 23.Стародуб Н.Ф. Неэлектродные биосенсоры - новое направление в биохимической диагностике. Биополимеры и клетка. 1989, Т.5, №1, 5-15.
- 24.Кольман Я., Рем К.-Г. Наглядная биохимия. М.: Мир, 2000.- 469 с.
- 25.Коничев А.С., Севастьянова Г.А. Молекулярная биология. М.: Академия, 2005. - 208 с.
- 26.Неизотопные методы иммуноанализа. Итоги науки и техники, серия "Биотехнология". // М.: Изд. ВИНТИ, 1987.
- 27.Киселев, Л.Л. Геном человека и биология XXI века. *Вестник РАН*. 2000. Т.70, № 5. С. 412 – 424.
- 28.Стид Дж. В., Этвуд Дж. Л., Супрамолекулярная химия. Т. 1, 2. Москва: Академкнига, 2007.
- 29.Говорун В.М., Арчаков А.И. Протеомные технологии в современной медицинской науке. *Биохимия*. 2002. Т. 67, вып. 10. С. 1341 – 1359.
- 30.Арчаков А.И. Биоинформатика, геномика и протеомика— наука о жизни XXI столетия. *Вопр. мед. химии*. 2000. Т. 46, №1. С. 3–7.
- 31.Мажуль, В.М. Развитие исследований в области протеомики в Республике Беларусь: фундаментальные и прикладные аспекты. *Наука и инновации*. 2005. Т. 29, № 7. С. 42 – 51.
- 32.Белок: стратегия функционирования. В.М. Мажуль [и др.] //Биофизика живых систем: от молекулы к организму / под общ. ред. И.Д. Вологовского. Минск, 2003. С. 27 – 40.
- 33.Мирзабеков А.Д., Прокопенко Д.М., Четкин В.Р. Применение матричных биочипов с иммобилизированной ДНК в биологии и в медицине // Информационные медико-биологические технологии /Под ред. В.А. Князева, К.В.Судакова. М.: ГОЭТАР-МЕД, 2000. С. 166–198.
- 34.Ермолаева Т.Н., Калмыкова Е.Н. Пьезокварцевые иммуносенсоры. Аналитические возможности и перспективы. *Успехи химии*. 2006. Т. 75, N 5.
- 35.Ленинджер А. Основы биохимии: В 3-х т. Пер. с англ. М.: Мир, 1985. Т. 1. – 367 с.; Т. 2. – 368 с.; Т. 3. – 320 с.
- 36.Причард Э., Барвик В. Контроль качества в аналитической химии. ЦОП «Профессия» 2011. – 320 с.
- 37.Клячко Н.Л. Ферменты - биологические катализаторы: Основные принципы действия // *Соросовский Образовательный Журнал*. 1997. № 3. С. 58-63.
- 38.Ферментационные аппараты для процессов микробиологического синтеза под ред. В. А. Быкова. – М. : ДеЛи Принт, 2005. – 278 с.
- 39.Евстрапов А.А. Физические методы управления движением и разделением микрочастиц в жидких средах. Часть 1. Диэлектрофорез, фотофорез, оптофорез, оптический пинцет // *Научное приборостроение*. 2005. Т. 15, №1. с. 8-21.
- 40.Беленький Б.Г., Комяк Н.И., Курочкин В.Е., Евстрапов А.А., Суханов В.Л. Микрофлюидные аналитические системы (Часть 1). *Научное приборостроение*. 2000. Т. 10, № 2. С. 57-64.

- 41.Беленький Б.Г., Комяк Н.И., Курочкин В.Е., Евстапов А.А., Суханов В.Л. Микрофлюидные аналитические системы (Часть 2). *Научное приборостроение*. 2000. Т. 10, № 3. С. 3-16.
- 42.Стародуб Н.Ф. Неэлектродные биосенсоры - новое направление в биохимической диагностике. *Биополимеры и клетка*. 1989. Т.5, №1. С. 5-15.
- 43.Пельтек С.Е., Фрумин Л.Л., Часовских В.В. Нелинейный импульсный электрофорез полимерных цепей. *Доклады Академии наук*. 2005. Т. 404, N 6. С.826-830.
- 44.Чеботарев В.Д., Реке А.Н. Метод импульсного гель-электрофореза в исследовании биологических макромолекул. *Молекулярная биология*. 1990, Т.24, N 4. С. 598-613.
- 45.Чеботарев В.Д., Реке А.Н. Классический и импульсный гель-электрофорез биополимеров: Теория и приложения. *Биофизика*. 1992. Т. 37, № 2. С.243-289.
- 46.Власов Ю.Г., Легин А.В., Рудницкая А.М. Мультисенсорные системы типа электронный язык – новые возможности создания и применения химических сенсоров. *Успехи химии*. 2006. Т. 75, № 2. С. 141-150.
- 47.Лисичкин Г.В., Крутяков Ю.А. Материалы с молекулярными отпечатками: синтез, свойства, применение. *Успехи химии*. 2006. Т.75, № 10. С. 998-1017.
- 48.Гендриксон О.Д., Жердев А. В., Дзантиев Б. Б. Молекулярно импринтированные полимеры и их применение в биохимическом анализе. *Успехи биологической химии*. 2006. Т. 46. С. 149-192.
- 49.Нартова Ю.В., Еремин С.А., Еромолаева Т.Н. Массочувствительные иммуносенсоры для определения хлорацетанилидных гербицидов. *Журнал аналитической химии*. 2008. Т. 63, N 12. С. 1302-1310.
- 50.Лебедев А. Т., Заикин В. Г. Масс-спектрометрия органических соединений в начале XXI века. *Журнал аналитической химии*. 2008. Т. 63, N 12. С. 1236-1264.
- 51.Развитие и применение новых масс-спектрометрических методов анализа веществ. Николаев Е. Н. [и др.] // *Известия Российской академии наук. Энергетика*. 2007. № 6. С. 125-139.
- 52.Боченков В.Е., Сергеев Г.Б. Наноматериалы для сенсоров. *Успехи химии*. 2007. Т. 76, № 11. С. 1084-1093.
- 53.Mikkelsen S.R., Corto'n E. Bioanalytical chemistry. Published by John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey. 2004. - 361 p.

Адреса сайтов

- Журнал «Биотехнология»: www.genetika.ru/journal/
- Журнал «Вестник биотехнологии»: www.biorosinfo.ru
- Journal of Analytical and Bioanalytical Techniques:
<http://www.omicsonline.org/jabthome.php>
- Analytical and Bioanalytical Chemistry:
<http://www.springer.com/chemistry/analytical+chemistry/journal/216>

- Bioanalysis: <http://www.future-science.com/loi/bio>
- Journal of Bioanalysis and Biomedicine:
<http://www.omicsonline.org/jbabmhome.php>
- <http://biomolecula.ru>